

# 物种鉴定报告

## Species Identification Report

### PCR 法物种检测报告

## 样品信息

样品编号:

客户样本编号	公司编号
MC3T3-E1	

样品数量: 1

样品性状: 细胞系

检测项目: PCR

送检单位: 厦门逸漠生物科技有限公司

## 1. 摘要

本项目利用一代 (Sanger) 测序的方法, 利用基因组提取试剂盒对客户提供的样品进行 DNA 提取, 通过 PCR 扩增, 琼脂糖电泳检测, 胶回收等步骤, 对扩增的 PCR 产物进行检测及纯化, 使用美国 ABI 公司生产的 3730XL 测序仪对 PCR 产物进行测序。

## 2. 样品编号

样品编号	样品描述
MC3T3-E1	逸漠库留样细胞

## 3. 实验材料描述

### 3.1 主要试剂

试剂名称	试剂来源	cat.No
BM2000 + DNA Marker	博迈德	MD102-01
琼脂糖	Biowest agarose	
2 × Taq Master Mix	苏州诺维赞生物	P111-01
Primer	铂瑞生物	
基因组 DNA 提取试剂盒	天根生化	DP304-02

### 3.2 主要仪器及器材

仪器名称	仪器来源	cat. No.
PCR 仪	西安天隆科技	Genesy 96T
Positive clone 测序	铂瑞生物技术	

稳压 DNA 电泳仪	天能公司	EPS300
凝胶成像仪	培清科技	JS-780
移液器	大龙公司	
高速离心机	湘仪	TG16-W

## 4. DNA 提取

提取方法详见天根生化基因组提取试剂盒说明书。

### 4.1 DNA 质量检测

取 5  $\mu$ l DNA 溶液 1%琼脂糖、1X TAE 缓冲溶液电泳 (电压 120~180 V) 检测,单一条带说明 DNA 完整无降解,有明显的条带说明浓度可以满足 PCR 要求;

### 4.2 分光光度计检测浓度和纯度

取 1  $\mu$ l 检 OD 值, OD 260/280 在 1.7~2.0, 说明 DNA 质量较好, 小于 1.7 有蛋白污染, 大于 2.0 有 RNA 污染。一般有少量的蛋白与 RNA 污染不影响普通 PCR。

### 4.3 引物合成

依据上述参考序列, 使用 Snapgene 软件设计 2 条 PCR 扩增引物, 具体的序列信息如下:

ID	homo	mus	rat
产物大小 (bp)	391 bp	150 bp	196 bp

## 5. PCR 扩增

### 5.1 体系 (50 $\mu$ l)

名称	体积
5*Primerstar Buffer	10 $\mu$ l
dNTP (2.5 mM)	4 $\mu$ l
Primerstar HS (1 U/ $\mu$ l, Takara)	1 $\mu$ l
Primer F (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Template DNA (约 100 ng)	0.2 $\mu$ l
补足 ddH <sub>2</sub> O 至	32.8 $\mu$ l

## 5.2 反应程序:

温度 (°C)	时间	
95	3min	
95	30s	} 30cycle
60	30s	
72	30s	
72	5min	

## 5.3 凝胶电泳检测条带

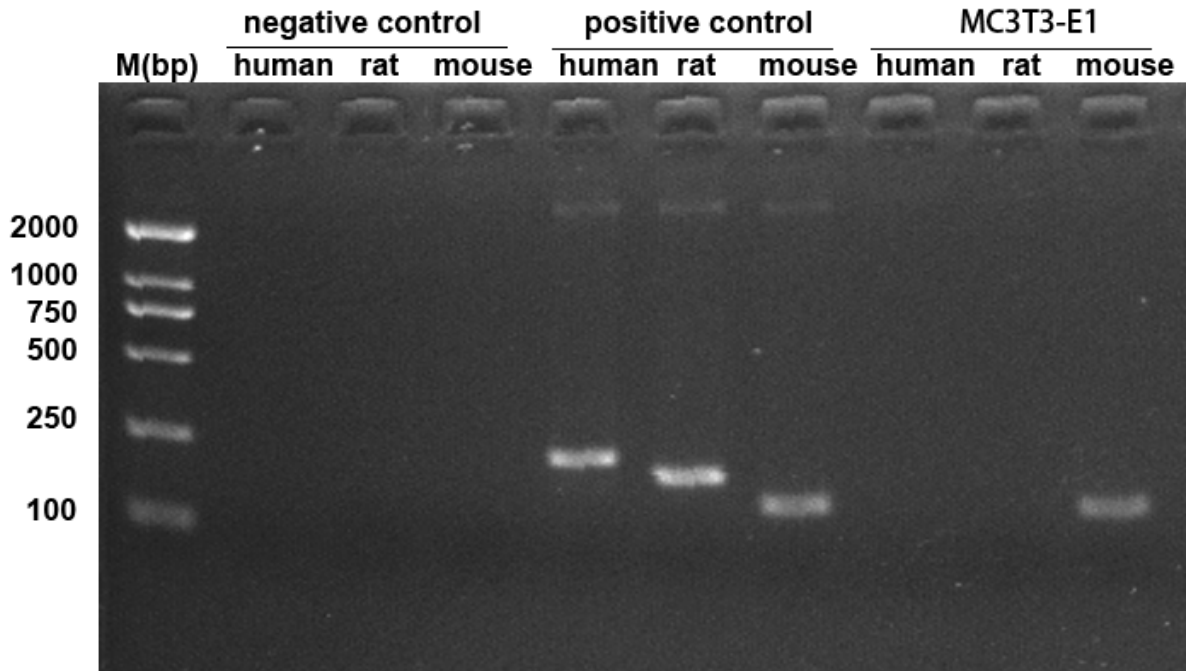
PCR 产物取 5  $\mu$ l 1%琼脂糖凝胶电泳, 电泳参数: 150 V, 100 mA, 10~20 min 电泳观察 (见电泳图)。

## 6. 测序

剩余 45  $\mu$ l PCR 产物送测序公司进行一代测序验证, 在 result group 中寻找结果, 并用 sequence analysis 软件进行分析。使用说明: 峰图文件 (.ab1) 可用 Chromas 软件或 SeqMan 软件打开。序列比对可用 SeqMan 软件。

## 7. 实验结果

### 7.1 凝胶电泳结果:



### 7.2 基因分型结果:

>MC3T3-E1

```
GGCCCGGTCCGTGTTGCCGAGGCATTACTACTACTAACAGACCGCAACCT
AAACACAACCTTTCTTTGATCCCGCTGGAGGAGGGGACCCAATTCTCTACCA
GCATCTGTTCTGATTCTTTGGGA
```

Descriptions		Graphic Summary	Alignments	Taxonomy				
Sequences producing significant alignments								
Download Select columns Show 100								
select all 100 sequences selected								
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Mus musculus domesticus strain DJO isolate_FB24_mitochondrion_complete genome	Mus musculus d...	198	198	87%	1e-46	99.10%	16300	OR840743.1
Mus musculus domesticus strain DIK isolate_SX4927_mitochondrion_complete genome	Mus musculus d...	198	198	87%	1e-46	99.10%	16302	OR840742.1
Mus musculus mitochondrial DNA complete sequence_cell_line:P29-69-183	Mus musculus	198	198	87%	1e-46	99.10%	16300	AP014540.1
Mus musculus strain M13_mitochondrion_complete genome	Mus musculus	198	198	87%	1e-46	99.10%	16299	KP260516.1
Mus musculus domesticus strain RZYM isolate_SX4141_mitochondrion_complete genome	Mus musculus d...	198	198	87%	1e-46	99.10%	16300	OR840751.1
Mus musculus domesticus strain 129P3/J_mitochondrion_complete genome	Mus musculus d...	198	198	87%	1e-46	99.10%	16299	FJ374639.1
Mus musculus strain FVB/NJ_mitochondrion_complete genome	Mus musculus	198	198	87%	1e-46	99.10%	16300	EE108338.1
Mus musculus domesticus strain SINJ isolate_IS16977_mitochondrion_complete genome	Mus musculus d...	198	198	87%	1e-46	99.10%	16302	OR840759.1
Mus musculus mitochondrial DNA including ND2_tRNA-Trp_tRNA-Ala_tRNA-Asn_tRNA-Cys_tRNA-Tyr...	Mus musculus	198	198	87%	1e-46	99.10%	2468	LC061932.1
Mus musculus strain KK/HIJ_mitochondrion_complete genome	Mus musculus	198	198	87%	1e-46	99.10%	16300	EE108339.1
Mus musculus domesticus strain STLT isolate_IS3782_mitochondrion_complete genome	Mus musculus d...	198	198	87%	1e-46	99.10%	16297	OR840771.1
Mus musculus genome assembly organelle:mitochondrion	Mus musculus	198	198	87%	1e-46	99.10%	16301	OX390165.1
Mus musculus mitochondrial DNA including ND2_tRNA-Trp_tRNA-Ala_tRNA-Asn_tRNA-Cys_tRNA-Tyr...	Mus musculus	198	198	87%	1e-46	99.10%	2469	LC061935.1

实验结果描述：测序结果匹配到小鼠的基因片段，所以该细胞样品种属为

小鼠。